

Title	Mesoscopic structural dynamics and mechanics of cell membrane models(Abstract_要旨)
Author(s)	Yamamoto, Akihisa
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	http://dx.doi.org/10.14989/doctor.r12911
Right	学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要旨は2015/04/01に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	山本暁久
論文題目	Mesoscopic structural dynamics and mechanics of cell membrane models (細胞膜モデルのメゾスコピックな構造ダイナミクスとメカニクス)		
(論文内容の要旨)			
<p>生命現象を物理学として明らかにする研究には、大きく2つのアプローチがある。一つは現象論的な一致からメカニズムに迫る方法、もう一つは現象の構成要素の物性を明らかにしていく方法。山本暁久氏の論文は、後者のアプローチで実験結果を積み上げていく事で、できるだけ実態を明らかにしつつ生命現象を明らかにしていこうという立場をとっている。研究の主な対象は脂質二分子膜である。脂質二分子膜は細胞膜の基本構造であり、細胞の形や、細胞表面の生命現象に関わる重要な場となっている。タンパク質や糖鎖など細胞膜に存在する機能性の生体高分子に関して、その発現量や微細な構造の違いが、脂質二分子膜の物性やダイナミクスにどのような影響を与えるかは、生化学的機能との関連でも非常に興味深い。</p> <p>本学位論文は、糖鎖による構造修飾やタンパク質配列といった分子レベルのミクロな違いが、膜のメゾスコピックなダイナミクスに与える影響に主眼を置いて研究をまとめている。第1章では研究の動機及び論文の概要について述べ、第2章では脂質二分子膜の物理化学的な性質について概説し、さらに後の章で議論する実験結果に関連する高分子鎖ダイナミクス及び中性子散乱法を取り上げ、その理論的な基礎についてまとめている。第3章第1節では、脂質膜が作るナノチューブ構造のダイナミクスを直接観察し、個々のナノチューブの太さを顕微鏡の解像度を超えて取得する手法について述べている。擬2次元空間内と見做せるマイクロスリットに個々のチューブを導入し、観察される紐のダイナミクスから、膜の曲げ剛性係数やチューブの太さを解析する手法を編み出した。第3章第2節ではこの方法論を応用し、F-BARドメイン持つタンパク質の、膜との相互作用を検討した。複数種類のF-BARタンパク質に対しチューブの形成ダイナミクスや形成されたチューブの物性を明らかにした。これらの結果がF-BARドメインの相同性、つまり分子系統樹に応じて分類できることが分かった。第4章では、非鏡面中性子散乱法を用いて脂質膜の力学特性を測定する手法について述べ、膜表面を被覆する糖鎖が膜物性に与える影響について議論を展開している。実験では細胞表面に存在するGb3という糖脂質で構成した二分子膜積層構造を作成し、その水和状態を非鏡面中性子散乱法で測定した。この手法では、散乱ベクトルの基板水平成分と垂直成分を分離して取得することで積層構造が持つ特徴的な2軸を同時に測定している。この散乱強度分布を、モデル式でフィットすることで、Gb3糖脂質膜の曲げ剛性率と弾性圧縮率を精密に定量した。単純なリン脂質や長さや配位がわずかに異なる糖脂質などとの結果を比較し、親水基の分子構造のわずかな違いが膜の力学特性に大きく影響を与えることを明らかにした。</p> <p>最後に第5章で論文全体をまとめ、得られた成果と今後の課題、研究の発展性について述べている。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、タンパク質や糖鎖といった機能性の生体高分子が、細胞膜などの脂質二分子膜構造のダイナミクスとメカニクスに与える影響を物性実験として明らかにした。以下に、主に学術的な成果や新規性に関する点を中心に審査結果を報告する。

第3章において、脂質ナノチューブの構造変化のダイナミクスから、二分子膜の曲げ剛性係数やナノチューブの太さを解析する手法を提案している。ナノチューブの太さは一般に顕微鏡分解能以下であり、電子顕微鏡などの様に固定操作をせずに、その太さを個別に解析できる点は大きなメリットである。また、曲げ剛性率に関しても個別のチューブを非侵襲的に測定する手法は他に無く、独創的な測定法であると考ええる。実験面ではマイクロスリットにチューブを挿入し、自由度を制限する工夫により定量的なデータを系統的に得られる事を示している。解析に使った計算は、膜の連続体モデルから出てくる自由エネルギーをブラウン運動による構造変化と関連付けている。また、持続長よりもやや大きいスリットでも自由度が十分に制限される事を、高分子の理論を用いる形で確認している。これら、膜物性や高分子物理学など既存の学問領域に関する知見を融合的に活用することで、新規な実験手法を考案し、実施している点を評価した。

続く節では、上記の実験手法をF-BARという、膜陥入を誘起するタンパク質群に応用した成果を報告している。複数種類のF-BARタンパク質に対しチューブ形成過程やチューブの物性を実験測定から明らかにした。これらの結果がF-BARドメインの相同性、つまり分子系統樹に応じて分類できることを示した。F-BAR配列の微妙な相違は、それぞれの発現場所に適する形に進化して今に至っていると考えられており、膜に与える具体的な物性変化を初めて定量的に同定した点に大きな意義があると評価した。

第4章では、Gb3糖脂質で構成した積層二分子膜の曲げ剛性率と圧縮剛性率を非鏡面中性子散乱法で測定している。この糖脂質は広く脊椎動物の細胞表面に発現しているもので、細胞同士の接着を制御している。また、O157等が出すペロ毒素に対して、Gb3が細胞内取り込みに関与していると言われており、この物性変化を調べる事は医学的にも重要である。実験手法としては、中性子の散乱シグナルを2次元で解析することにより、積層面の平行方向と垂直方向の二成分を同時に取得し、良好なシグナルの方を解析することで、データ解析の信頼性を上げている。この糖脂質は、膜面に対する分子の自発曲率が大きく、広域での二分子膜構造が不安定となり、マイクロドメインに分かれる性質を持っている。その為、従来の散乱モデルでフィットすると波数の大きい側が不正確になってしまう。これを解決する散乱モデルが先行研究で考案されており、申請者は精密に実験データにフィットする解析手法を編み出した。この方法では、積分範囲を制限する形でマイクロドメインの大きさをモデルに入れる。過去の文献にあるAFM観察像から得られるドメインサイズと同様の大きさを入れた時に解析誤差が収束しており、周辺のデータを良く説明できる形になっている。生物学的な意義を持っているものの実験や解析の難しい試料は数多くあるが、これを独自の工夫でもって結果に結びつけた点を評価した。

このように、精密にデザインされたモデル細胞膜系を、実空間・逆空間的手法によって定量解析し、メゾスコピックな構造ダイナミクスとメカニクスが、生化学的な機能とどの様に関連するかを明らかにした本研究は、独創的かつ新規的である。

以上により総合的に判断し、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年12月26日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。